

ИНСТРУКЦИЯ О МЕРОПРИЯТИЯХ ПО ПРОФИЛАКТИКЕ И ЛИКВИДАЦИИ ПАРАТУБЕРКУЛЕЗНОГО ЭНТЕРИТА (ПАРАТУБЕРКУЛЕЗА) КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

(Утверждена Гласным управлением ветеринарии Министерства сельского хозяйства СССР 18 августа 1975 г. взамен инструкции от 10 января 1940 г.)

Общие положения

1.1. Паратуберкулезный энтерит (паратуберкулез) крупного рогатого скота – хроническая инфекционная болезнь, протекающая в основном латентно. При клиническом течении отмечается прогрессирующее истощение и иногда периодическая диарея.

1.2. Мероприятия по борьбе с паратуберкулезом крупного рогатого скота включают: охрану благополучных хозяйств от заноса инфекции; диагностические исследования животных с целью своевременного выявления больных паратуберкулезом;

оздоровление неблагополучных по паратуберкулезу хозяйств (отделений, ферм, стад) путем убоя больных животных, изолированного выращивания здорового молодняка и осуществления санитарных и организационно-хозяйственных мероприятий, направленных на уничтожение возбудителя инфекции во внешней среде.

1.3. Руководители хозяйств (предприятий) и владельцы животных в соответствии с Ветеринарным уставом Союза ССР несут ответственность за своевременное проведение мероприятий, предусмотренных настоящей инструкцией.

Ветеринарные специалисты обязаны организовывать и проводить в хозяйствах и населенных пунктах ветеринарные мероприятия по профилактике и ликвидации заболевания животных паратуберкулезом.

1.4. Контроль за выполнением в хозяйствах мероприятий по профилактике и ликвидации паратуберкулезного энтерита животных осуществляют государственные ветеринарные инспектора.

2. Диагностика паратуберкулезного энтерита

2.1. Первичный диагноз на паратуберкулезный энтерит крупного рогатого скота устанавливают на основании наличия у животных характерных клинических признаков болезни (прогрессирующее истощение, диарея) с обязательным подтверждением диагноза бактериоскопией и гистологическим исследованием патологического материала (см. приложение № 1).

Для подтверждения диагноза разрешается убой животных с клиническими признаками паратуберкулеза.

2.2. При оздоровлении хозяйств (отделений, ферм, стад), неблагополучных по паратуберкулезу, выявление больных животных проводят путем клинического осмотра, двойной внутрикожной пробой альтертуберкулином для птиц и исследованием сывороток крови в реакции связывания комплемента (РСК).

Серологическому исследованию на паратуберкулез подлежат животные старше 18 месяцев.

3. Охрана благополучных хозяйств от заноса в них паратуберкулезного энтерита

3.1. В целях охраны хозяйств от заноса в них паратуберкулеза крупного рогатого скота руководители хозяйств и ветеринарные работники, обслуживающие хозяйство, обязаны:

не допускать ввоза (ввода) в хозяйства (фермы, отделения) животных из хозяйств, неблагополучных по паратуберкулезу крупного рогатого скота, за исключением случаев, указанных в пункте 4.2 подпункт “г” настоящей инструкции;

содержать изолированно в течение 30 дней всех вновь поступающих в хозяйства животных;

обеспечить клинические осмотры животных не менее двух раз в год: весной перед выгоном на пастбище и осенью перед постановкой на зимнее содержание и, кроме того, коров после отела;

содержать в надлежащем ветеринарно-санитарном состоянии пастбища, места водопоя, животноводческие фермы, помещения и другие сооружения для животных;

не допускать контакта крупного рогатого скота с животными неблагополучных по паратуберкулезу

хозяйств (ферм, стад) со скотом личного пользования, а также совместное содержание и выпас животных разных видов и возрастных групп.

4. Мероприятия по оздоровлению неблагополучных хозяйств от паратуберкулезного энтерита

4.1. При установлении диагноза на паратуберкулез хозяйство (отделение, ферму) объявляют неблагополучным по этой болезни в порядке, предусмотренном Ветеринарным уставом Союза ССР.

Ветеринарный врач, обслуживающий хозяйство, обязан представить главному ветеринарному врачу района план оздоровительных мероприятий, разработанный совместно с руководством хозяйства. Главный ветеринарный врач района берет на учет неблагополучное по паратуберкулезу хозяйство, рассматривает план оздоровления и представляет его на утверждение исполкому районного (городского) Совета депутатов трудящихся.

4.2. В хозяйстве (на ферме, отделении), неблагополучном по паратуберкулезу:

а) после установления диагноза всех животных стада (фермы) подвергают клиническому обследованию; животных с клиническими признаками заболевания выводят и сдают для убой на мясо.

Остальное поголовье крупного рогатого скота оздоравливаемого хозяйства (фермы) исследуют на паратуберкулез в следующем порядке.

От взрослых животных (старше 18 месяцев) берут кровь и сыворотку исследуют в РСК. Животных, с сывороткой крови которых получена положительная РСК, через 15–20 дней исследуют повторно серологическим методом и одновременно двойной внутрикожной пробой альттуберкулином для птиц. Животных, с сывороткой крови которых получена положительная РСК и давших одновременно положительную аллергическую реакцию, сдают на убой, остальных оставляют в стаде. В последующем серологическое исследование сывороток крови и аллергическое исследование животных в оздоравливаемом стаде проводят в порядке, как указано выше, 2 раза в год – весной и осенью, и 1 раз в квартал подвергают поголовье клиническому обследованию. Животных с клиническими признаками паратуберкулеза независимо от результатов аллергического и серологического исследования сдают на убой.

Молодняк в возрасте от 10 до 18 месяцев подвергают исследованию на паратуберкулез двойной внутрикожной пробой альттуберкулином для птиц. Животных, положительно или сомнительно реагирующих на туберкулин, изолируют и через 30–45 дней повторно исследуют аллергически. Животных, давших при повторном исследовании положительную или сомнительную реакцию, сдают на убой, остальных возвращают в общее стадо.

Материал от убитых животных во всех случаях направляют для бактериологического и гистологического исследования;

б) телят, родившихся от больных паратуберкулезом коров, сдают для убой на мясо;

в) телят, родившихся от здоровых животных неблагополучного стада, отделяют от взрослых животных и выпаивают молозивом в течение 5 дней, а затем выращивают на пастеризованном молоке и обрете на специально выделенной для этого ферме. В 10–12-месячном возрасте их исследуют на паратуберкулез двойной внутрикожной пробой альттуберкулином для птиц.

В зависимости от результатов исследования с ними поступают в порядке, как указано в пункте 4.2, подпункте “а”;

г) вывоз здорового молодняка из хозяйств, неблагополучных по паратуберкулезу, в благополучные хозяйства разрешают при условии выращивания его с соблюдением требований подпункта “в” пункта 4.2 настоящей инструкции и получения отрицательного аллергического исследования.

5. Ветеринарно-санитарные мероприятия в хозяйствах, неблагополучных по паратуберкулезному энтериту

5.1. Руководители хозяйств, неблагополучных по паратуберкулезу крупного рогатого скота, обязаны:

а) запретить перегруппировку животных без разрешения ветеринарного специалиста, обслуживающего хозяйство;

б) обеспечивать надлежащее санитарное состояние сточных дворов и территории вокруг них, проводить дезинфекцию мест содержания животных, инвентаря и другого оборудования, а также своевременное удаление навоза и его биотермическое обеззараживание;

в) обеспечить повседневное обеззараживание доильного оборудования и молочной посуды;

5.2. Пастбищные участки, на которых выпасалось стадо, неблагополучное по паратуберкулезу, считают благополучным в отношении паратуберкулеза по истечении одного пастбищного сезона. Пастбища с кислыми почвами необходимо подвергать известкованию и вносить в них фосфорные удобрения.

5.3. Водопой животных организуют из закрытых водоисточников. Пруды, канавы, большие лужи на пастбищах огораживают во избежание загрязнения их фекалиями животных.

5.4. Текущую и заключительную дезинфекции скотных дворов, выгульных площадок, инвентаря и оборудования осуществляют в порядке, как указано в “Инструкции по проведению дезинфекции, дезинсекции, дератизации и дезинвазии в животноводческих хозяйствах”.

5.5. Хозяйство считают оздоровленным от паратуберкулеза крупного рогатого скота через 3 года после последнего случая выявления животного, больного паратуберкулезом, и при условии проведения всех мероприятий, предусмотренных настоящей инструкцией.

5.6. Паратуберкулез овец, коз, верблюдов и других жвачных изучен недостаточно, поэтому борьбу с ним у животных этих видов осуществляют выявлением и убоем клинически больных животных и проведением ветеринарно санитарных и организационно-хозяйственных мероприятий, указанных в данной инструкции.

Приложение к “Инструкции о мероприятиях по профилактике и ликвидации паратуберкулезного энтерита (паратуберкулеза) крупного рогатого скота” от 18 августа 1975 г.

НАСТАВЛЕНИЕ ПО ДИАГНОСТИКЕ ПАРАТУБЕРКУЛЕЗНОГО ЭНТЕРИТА (ПАРАТУБЕРКУЛЕЗА) КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Для диагностики паратуберкулеза у крупного рогатого скота применяют клинический, аллергический, серологический, бактериологический и гистологический методы исследований.

1. Внутривенный метод туберкулинизации

1.1. Для аллергической диагностики паратуберкулеза применяют двойную внутривенную пробу альттуберкулином для птиц.

1.2. Альттуберкулин для птиц представляет собой стерильный, выпаренный до $\frac{1}{10}$ первоначального объема фильтрат убитых культур возбудителя туберкулеза птичьего типа, имеющий вид прозрачной жидкости темно-бурого цвета, вязкой консистенции, обладающей специфическим запахом.

1.3. Срок годности альттуберкулина для птиц – 5 лет со дня выпуска биофабрикой при условии хранения в темном прохладном помещении.

1.4. Каждую ампулу (флакон) с альттуберкулином перед применением просматривают. При обнаружении в них каких-либо примесей, плесени, хлопьев, трещин стекла, отсутствия этикетки ампулы (флаконы) выбраковывают. Использование остатков препарата из открытых ампул (флаконов) на следующий день не допускается.

1.5. Для введения туберкулина используют тонкие иглы для внутривенных инъекций из нержавеющей стали и шприцы с бегунком емкостью 1 или 2 мл. Шприцы и иглы стерилизуют кипячением в дистиллированной или кипяченой воде без добавления дезинфицирующих средств.

1.6. Туберкулин вводят крупному рогатому скоту внутривенно в области средней трети шеи. Перед введением туберкулина волосы в месте инъекции выстригают, кожу обрабатывают 70°C спиртом.

1.7. Туберкулин применяют в следующих дозах: животным в возрасте до 2 лет – 0,2 мл, от 2 до 3 лет – 0,3 мл, старше 3 лет – 0,4 мл.

1.8. Вводить туберкулин в кожу, имеющую травматические повреждения, уплотнения, абсцессы, пораженную грибами или клещами, запрещается.

1.9. Не разрешается исследовать аллергическим методом истощенных животных, маток за неделю до родов и в течение недели после родов, а также животных в течение 2 недель после вакцинации.

1.10. Учет и оценку реакций после первого введения туберкулина проводят через 48 часов. Положительно реагирующим животным повторно туберкулин не вводят. Остальным – сомнительно реагирующим и не реагирующим животным – туберкулин вводят повторно, в то же место и в той же дозе. Учет реакций на повторное введение туберкулина проводят через 24 часа. Результаты исследования записывают в ведомости против каждого исследованного животного.

1.11. У крупного рогатого скота внутривенная реакция на туберкулин проявляется в месте инъекции препарата в виде разлитого отека, напряженного в центре и тестоватой консистенции к краям, не имеющего, как правило, строгих границ, болезненного и горячего на ощупь.

Интенсивность проявления указанных признаков зависит от физиологического состояния животного. У животных с низкой упитанностью или клиническим проявлением болезни реакция может быть слабо выражена или отсутствовать.

1.12. Реакцию учитывают по наличию указанных признаков и по результатам измерения толщины кожной складки в месте введения туберкулина. Утолщение кожной складки измеряют штангенциркулем только у животных, имеющих реакцию на туберкулин, и сравнивают с толщиной кожи на другой стороне шеи или рядом с припухлостью. При наличии указанных признаков и утолщении кожной складки на 7 мм и более реакцию считают положительной. При наличии менее выраженных признаков воспаления и утолщении кожной складки от 5 до 7 мм реакцию считают сомнительной.

При отсутствии изменений или наличии безболезненных, холодных, отграниченных затвердений, если даже толщина кожной складки увеличивается более 5–7 мм, реакцию признают отрицательной.

2. Серологическая диагностика

2.1. Реакцию связывания комплемента (РСК) проводят в соответствии с временным наставлением по постановке реакции связывания комплемента для диагностики паратуберкулеза крупного рогатого скота и овец с антигеном Сибирского научно-исследовательского ветеринарного института.

3. Бактериологический и гистологический методы исследования

3.1. Лабораторный диагноз на паратуберкулез ставят на основании положительных результатов бактериоскопического и гистологического исследований. При необходимости проводят бактериологическое исследование.

3.2. От подозреваемых в заболевании паратуберкулезом животных собирают фекалии и пересылают их в лабораторию в закрытых пробирках или баночках.

Из фекалий выбирают комочки слизи или обрывки слизистой оболочки и, растирая их на предметных стеклах, готовят мазки.

3.3. Для посмертного бактериологического и гистологического исследований отбирают 3–5 различных участков тонкого отдела кишечника и 2–4 брыжеечных лимфатических узла, кусочек илеоцекальной заслонки с прилегающим лимфатическим узлом. При этом желателен отбирать измененные участки кишечника (с утолщенными стенками, с выраженной складчатостью слизистой оболочки) и увеличенные лимфатические узлы.

Для бактериологического исследования отобранный материал можно консервировать стерильным 30%-ным водным раствором глицерина или замораживанием. Для проведения бактериологического исследования отрезки кишечника и лимфатические узлы необходимо помещать в разные банки. Материал для гистологического исследования в обязательном порядке фиксируют в 10%-ном растворе формалина (одна часть продажного формалина на 9 частей воды).

3.4. Бактериоскопическое исследование. Для исследования готовят 4–6 мазков и окрашивают их по методу Циля–Нильсена. В каждом мазке просматривают до 50 полей зрения. При этой окраске темно-красные микобактерии паратуберкулеза располагаются на синем фоне палисадами (частоколом) или кучками по две, три и больше, что является характерным для возбудителя этой болезни. При обнаружении в мазках единичных и нетипично расположенных кислотоустойчивых бактерий из исследуемого материала повторно готовят и просматривают 4–6 мазков.

3.5. Гистологическое исследование. Для исследования вырезают кусочки из стенки кишечника шириной до 2 мм и лимфатических узлов не толще 2 мм. Отмывают их 2–3 часа в проточной воде от формалина. Проводят через серию спиртов и заливают в целлоидин, наклеивают на деревянные блоки и готовят срезы толщиной 10–15 микрометров. Часть препаратов окрашивают гематоксилин-эозином, а для обнаружения возбудителя – по Цилю–Нильсену.

Гистологические изменения при паратуберкулезном энтерите отличаются, от других энтеритов наличием типичных разrostов эпителиоидных клеток, располагающихся диффузно и в виде гранулем. Среди эпителиоидных клеток находятся и гигантские клетки типа Ланганса. Разrostы эпителиоидных клеток располагаются в слизистой оболочке кишечника, а иногда и в подслизистом слое. При этом ворсинки слизистой оболочки увеличены, часто сливаются и имеют вид колбообразных вздутий. Некоторые ворсинки сдавлены и атрофированы. Либеркюновые железы также подвергаются атрофии.

В брыжеечных лимфатических узлах эпителиоидные клетки располагаются преимущественно в краевых и центральных синусах, а в лимфатических сосудах – в их стенках (продуктивный эндолимфангит).

В срезах, окрашенных по Цилю–Нильсену, микобактерии паратуберкулеза находятся в эпителиоидных и гигантских клетках и реже вне их.

3.6. Бактериологическое исследование. Кусочки лимфатических узлов и отдельно соскобы (ткань) слизистой оболочки и подслизистого слоя кишечника в количестве 4–5 г измельчают ножницами до 2–3 мм, помещают в разные стерильные ступки, покрытые стерильной пергаментной бумагой. Лимфатические узлы заливают 3%-ным раствором серной кислоты в соотношении 1:10, а слизистую оболочку кишечника –

6%-ным раствором этой кислоты и выдерживают 10–15 минут. Затем раствор серной кислоты сливают, а материал заливают в зависимости от концентрации серной кислоты на 5 или 10 минут соответственно стерильным физиологическим раствором в таком же объеме. Физиологический раствор сливают, кусочки материала растирают и суспендируют в небольшом количестве стерильного физиологического раствора. Выстают на модифицированную казеиновую среду Дюбо–Смита с добавлением фактора роста (экстракт из микобактерии Тимофеевой травы) и для контроля – на среду Петраньяни. Посевы выдерживают в термостате при 38°C в течение 3–4 месяцев. Рост возбудителя паратуберкулеза на средах при сильном обсеменении тканей появляется через 18–20 дней, из слабо обсемененных – до 3 месяцев. Культуры вырастают в виде плоских колоний с неровными краями и ядром в центре. В дальнейшем они принимают бугристый вид. Для идентификации выделенную культуру высевает на казеиновую среду Дюбо–Смита с фактором роста и без него. Возбудитель паратуберкулеза в первых генерациях размножается на питательной среде только в присутствии фактора роста. Микобактерии паратуберкулеза непатогенные для лабораторных животных.

3.7. Приготовление питательной среды для бактериологического исследования.

а) Состав модифицированной казеиновой питательной среды Дюбо–Смита

Однозамещенный фосфорнокислый калий, KH_2PO_4	1 г
Двухзамещенный фосфорнокислый натрия, Na_2HPO_4	6,25 г
Сернокислый магний, MgSO_4	0,01 г
Хлористый кальций, CaCl_2	0,0005 г
Сернокислый цинк, ZnSO_4	0,0001 г
Сернокислая медь, CuSO_4	0,0001 г
Лимоннокислое аммонийное железо	0,05 г
Аспарагин	1 г
Гидролизат казеина	80 мл
Спиртовой экстракт микобактерии тимфеевой травы по Смиту	20 мл
Дистиллированная вода	До 1 л
Агар Дифко	1,5%
Стерильная инактивированная сыворотка крупного рогатого скота	20%
Пенициллин	50 ЕД на 1 мл среды

б) Приготовление гидролизата казеина

Нагревают до 28°C 1 л водопроводной воды. Добавляют 84 г казеина. Устанавливают едким кали рН 8,0. Подогревают на водяной бане в течение 3 часов при температуре 28°C. Снова доводят рН до 8,0. Добавляют 2 г панкреатина и 2 мл хлороформа. Полученную смесь переливают в бутылку, закрывают резиновой пробкой и оставляют при комнатной температуре. Спустя 10 дней фильтруют через полотно, устанавливают рН 7,4, разливают по флаконам и стерилизуют при 120°C в течение 30 минут. Гидролизат может сохраняться длительно при комнатной температуре.

в) Приготовление спиртового экстракта микобактерий тимфеевой травы по Смиту

Культуру микобактерии тимфеевой травы выращивают на мясо-пептонном бульоне, содержащем 4% пептона и 10% глицерина. Через 3–4 недели при получении пышного роста культуры ее отделяют от жидкости путем пропускания через двойной бумажный фильтр. Культуру отжимают в воронке, промывают стерильной дистиллированной водой и нагревают при 80°C в течение 30 минут в аппарате Коха. Высушивают в эксикаторе в чашках Петри над серной кислотой или хлористым кальцием или в термостате при 45°C, а затем помещают в стерильную ступку и тщательно растирают в порошок; 20 г сухого порошка 3 раза экстрагируют кипячением в спирте в течение 20 минут в колбе с обратным холодильником, расходуя каждый раз 150 мл спирта. Все порции экстракта собирают и оставляют на ночь. Надосадочную жидкость пропускают через бумажный фильтр и сливают в колбу, затем сгущают при пониженном давлении до образования вязкой красновато-оранжевой жидкости. Полученную жидкость смешивают с 80 мл 50%-ного раствора глицерина, приготовленного на дистиллированной воде. Устанавливают рН 7,6. Жидкость прогревают в кипящей водяной бане в течение 10 минут. Горячую жидкость помещают в делительную воронку и оставляют на ночь. Оставшийся на поверхности жидкости слой жироподобных веществ снимают, а нижнюю светлую часть жидкости (рН 7,0) сливают, разливают в ампулы, запаивают и автоклавируют при 120°C в течение 20 минут. Экстракт можно хранить длительное время.

г) Приготовление солевых компонентов

Взвешивают однозамещенный фосфорнокислый калий, Двухзамещенный фосфорнокислый натрий, сернокислый магний и растворяют в 100–250 мл дистиллированной воды в литровой колбе. В другой колбе в таком же объеме воды при подогревании поочередно растворяют аспарагин и лимоннокислое аммиачное железо, которые смешивают с раствором указанных выше солей, прибавляют хлористый кальций, сернокислый цинк и сернокислую медь. Их дозируют следующим образом.

Расчет для сернокислого цинка (меди). На торзионных или аналитических весах взвешивают 10 мг вещества, которое растворяют в 10 мл воды. К 1 мл этого разведения приливают 9 мл воды и получают раствор, в 1 мл которого содержится 0,0001 г сернокислого цинка (меди). Для приготовления нужной концентрации раствора хлористого кальция взвешивают 50 мг вещества, а затем поступают, как указано выше. На 1 л среды добавляют по 1 мл каждого конечного разведения соответствующего вещества.

д) Порядок составления среды

В колбу с растворами солей и аспарагина добавляют 80 мл гидролизата казеина, 20 мл экстракта микробактерии тимофеевой травы, доливают дистиллированной воды до 1 л и пропускают через бумажный фильтр.

Устанавливают соляной кислотой рН 6,5. Разливают равномерно по флаконам, добавляют 1,5% агара и стерилизуют при 120°C в течение 20 минут или при 112°C 30 минут. Такой полуфабрикат длительно сохраняется при комнатной температуре.

Перед употреблением к расплавленному в водяной бане полуфабрикату добавляют 20% стерильной, инактивированной при 50°C в течение часа сыворотки крупного рогатого скота и пенициллин из расчета 50 ЕД на 1 мл среды.

Готовую среду разливают по пробиркам, скашивают, выдерживают при комнатной температуре в течение суток. Для проверки на стерильность пробирки со средой помещают в термостат на 2–3 суток.